ミニプロティアン 3 セル

取扱説明書

Catalog Numbers
165-3301
165-3302

ご使用前に

この取扱説明書を十分お読み下さい。
なお、この取扱説明書は紛失しないよう
に製品の近くに保存して下さい。

BIO-RAD

目　　次

1．ご使用にあたって……1

1－1 はじめに……1

1－2 構成……1

1－3 仕様……3

1－4 安全にご使用いただくために……3

2．組み立てと基本操作……4

2－1 ゲルカセットの準備……4

2－2 泳動槽の組み立てとサンプルアプライ……6

2－3 泳動……7

3．分離の理論と条件検討……8

3－1 はじめに……8

3－2 SDS-PAGE (Laemmli)バッファー系……10

3－3 Native-PAGE……10

4．試薬の調製と保存溶液……11

4－1 ゲル1枚あたりに必要な溶液量……11

4－2 SDS-PAGE (Laemmli)バッファー系……11

4－3 不連続バッファー系Native-PAGE(Ornstein-Davis)……13

4－4 連続バッファー系Native-PAGE……15

5．参考文献……17

6．メンテナンス……17

7．トラブルシューティング……18

8．関連製品とアクセサリー……20

9．保証……21

１．ご使用にあたって

１－１ はじめに

ミニプロティアン３セルは、ハンドキャストゲル、および弊社製プレキャストゲル（レディーゲルＪ）の両方の泳動にお使い頂けるミニゲル電気泳動装置です。ミニプロティアン３セルには、キャスティングスタンドとスペーサーが接着されたガラスプレートが含まれており、ゲルのキャスティングが簡単に行えます。ミニプロティアン３セルは、１度に１枚または２枚のゲルを泳動することができます。下部バッファー槽はミニトランスブロットセル、チューブセル、エレクトロエリューターの各モジュールと共用することができます。

図１．ミニプロティアン３システム構成

１－２ 構成

ミニプロティアン3セルでより良い結果を得るために、お使いになる前に装置の構成品と組み立て方を図1および図2を参考にして良く確認して下さい。

スペーサー付ガラスプレート
スペーサー付ガラスプレートはスペーサーが接着された長い方のガラスプレートです。スペーサーの厚さは0.5mm、0.75mm、1.0mm、1.5mmがあり、各プレートにその厚さが明記されています。

ショートガラスプレート
ショートガラスプレートはフラットな短い方のガラスプレートです。

キャスティングフレーム
ゲルカセットを作る際、スペーサー付ガラスプレートとショートガラスプレートをまっすぐに合わせて動かないように固定します。

ゲルカセットアッセンブリ
スペーサー付ガラスプレート、ショートガラスプレートを各1枚ずつ組合わせてキャスティングフレームにセットしたものがゲルカセットアッセンブリとなります。

キャスティングスタンド
ゲルを作成する際、ゲルカセットアッセンブリを固定します。スプリングレバーで挟むことでゲルカセットアッセンブリをガスケットに押さえつけて固定します。

ゲルカセット
スペーサー付ガラスプレートとショートガラスプレートの間にアクリルアミドゲルを重合したものをゲルカセットと呼びます。

コーム
種々の厚さ、ウェル数のコームを別売りでご用意しています。（「8．関連製品とアクセサリー」参照）

バッファーダム
ゲルを1枚だけ泳動するときに使用します。

電極アッセンブリ
電極アッセンブリはU字型ガスケット、上部および下部電極白金線、バナナプラグがついており、ゲルカセットがセットできるようになっています。陽極側（下部バッファー槽の白金線）のバナナプラグは赤色、陰極側（上部バッファー槽の白金線）のバナナプラグは黒色に色分けされています。

クランピングフレーム
クランピングフレームによって電極アッセンブリとゲルカセットが正しい位置にセットされます。ゲルカセットと電極アッセンブリがプレッシャープレートとカムによって押さえつけられて上部バッファー槽になります。

上部バッファー槽
電極アッセンブリ、2枚または1枚のゲルカセットとバッファーダム、クランピングフレームによって構成されます。

下部バッファー槽、ケーブル付フタ

泳動は上部バッファー槽を下部バッファー槽の中に完全に納め、フタを締めた状態で行います。パワーサプライの電源を切らずにフタをとりはずすことは避けて下さい。

下部バッファー槽とフタはミニトランスブロットモジュール、ミニチューブモジュール、モデル422エレクトロエリューターモジュールにも共通してお使い頂けます。

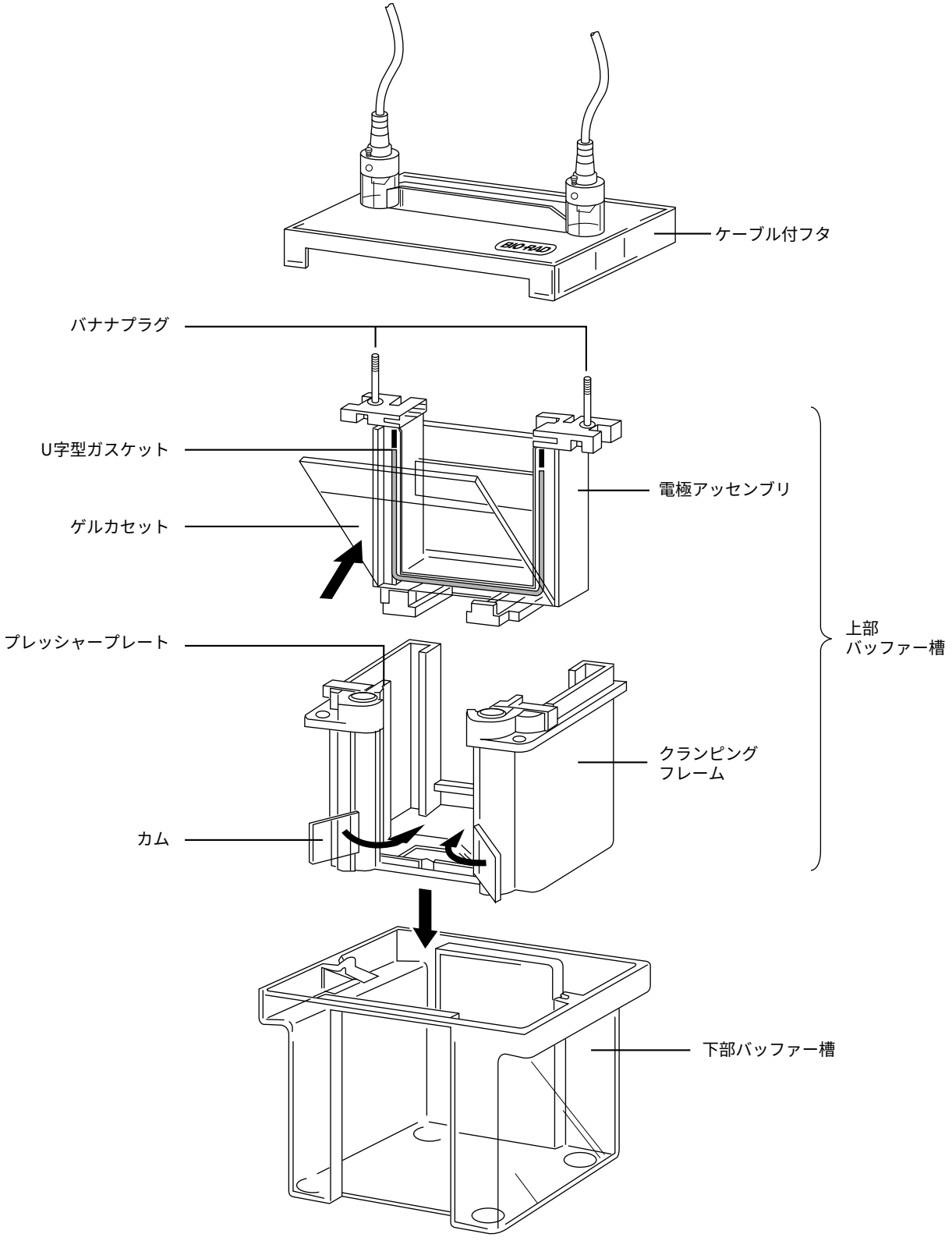


図２．ミニプロティアン３の組み立て

１－３ 仕様

キャスティングスタンド	ポリカーボネート
ピン、リング、スプリング	ステンレス
キャスティングフレーム	ポリスルフォン
キャスティングスタンドガスケット	シリコンゴム（グレー）
クランピングフレーム	成形プラスチック
プレッシャープレート、カム	ポリカーボネート
電極アッセンブリ	成形プラスチック
電極	0.245mm径白金線
U字型ガスケット	シリコンゴム（グリーン）
下部バッファー槽、ケーブル付フタ	成形ポリカーボネート
サンプルローディングガイド	Delrin™
コーム	ポリカーボネート

コーム１ウェルあたりのサンプル容量

ウェル数	ウェル幅	0.5mm厚	0.75mm厚	1.0mm厚	1.5mm厚
5	12.70mm		70 µl	105 µl	160 µl
9	5.08mm		33 µl	44 µl	66 µl
10	5.08mm	22 µl	33 µl	44 µl	66 µl
15	3.35mm	13 µl	20 µl	26 µl	40 µl
IPG	76.20mm			420 µl	730 µl
Prep/2D					
Reference well	3.10mm		13 µl	17 µl	30 µl
Sample well	71.70mm		310 µl	400 µl	680 µl

外寸法	16cm（L）×12cm（W）×18cm（H）
プレキャストゲル互換性	バイオ・ラッド製　レディーゲルＪのみ
電圧リミット	600VDC 、15ワット
重量	2.0kg

Note:ミニプロティアン３の構成品は、アセトンやエタノールに対して耐性がありません。有機溶媒の使用は避けて下さい。ご使用にあたって薬品耐性が不明な場合はお問い合わせ下さい。

１－４ 安全にご使用いただくために

ミニプロティアン３セルをご使用になる場合、電気泳動用のパワーサプライをご用意下さい。パワーサプライは必ずアースを取ってご使用下さい。 バイオ・ラッド製のパワーサプライは種々の安全設計が施されておりますので安心してご使用いただけます。パワーサプライは右記に示すミニプロティアン３セルの最大操作条件を超えない出力範囲でご使用下さい。装置のフタは安全設計になっています。フタを外すと電流は流れないようになっていますが、事故防止のため装置を取り扱う際は必ずパワーサプライの電源を切って下さい。

最大電圧	600VDC
最大電力	15ワット
室　　温	50℃以下

注意：本製品は理化学機器の国際安全基準*EN61010-1に適合した製品です。本取扱説明書に従って使用する場合は安全にお使いいただけますが、改造等を行った場合には、

・ 保証を行えません。
・ EN61010-1基準に適合しません。
・ 危険な状況をもたらします。

定められた使用目的以外で使用したり、バイオ・ラッド以外の者による改造を行った場合に生じたケガやトラブルについては弊社では責任を負いかねます。

*EN61010-1 is an internationally accepted electrical safety standard for laboratory instruments.

２．組み立てと基本操作

２－１ ゲルカセットの準備

ゲルカセットの作成

１．ゲルカセットアッセンブリの組み立て

Note:ガラスプレートはご使用前にきれいに洗浄し乾燥させて下さい。

ａ．キャステイングフレームのカムを内側に回転させて開き、カムを手前に向けて水平な場所にまっすぐに立てます。

ｂ．目的のゲル厚のスペーサー付ガラスプレートの上にショートガラスプレートを重ねます（図3-a）。

ｃ．重ねたガラスプレートをスペーサー付ガラスプレートの刻印を上にし、ショートガラスプレートがキャスティングフレームの表側（カムがついている側）になるようにしてキャスティングフレームに上から挿入します（図3-b）。

Note:２枚のガラスプレートの下端面が揃うように注意して下さい。ガラスプレートの下端が揃っていないと、モノマーがもれてしまいます。

ｄ．ガラスプレートがキャスティングフレームにしっかりと固定されるようにカムを閉じ、ゲルカセットアッセンブリを作ります。２枚のプレートの下端が揃っていることを確認して下さい（図3-c）。

ｅ．ゲルカセットアッセンブリをフレームの表側を手前に向けてキャスティングスタンドのガスケットの上に置きます。スプリングレバーでスペーサー付ガラスプレートを押さえてガスケットに密着させます（図3-d）。

Note:ゲルカセットアッセンブリは垂直になるよう注意してください。

ｆ．　２枚目のゲルカセットの作成も同様にａ－ｅを繰り返します。

２．ゲルの作成

ａ．不連続バッファー系ポリアクリルアミドゲル

ⅰ．コームをゲルカセットにしっかりと差し込み、ガラスプレートにコーム下端から1cm下の位置に印をつけます。この位置が分離ゲルを注入する高さになります。コームをゲルカセットから外します。

ⅱ．分離ゲルモノマー溶液を調製します（「４．試薬の調製と保存溶液」参照）。TEMEDとAPS以外の試薬をすべて混合し、減圧下で少なくとも15分間脱気します。

ⅲ．脱気したモノマー溶液にTEMEDとAPSを添加してよく混合します。ピペットなどを用いてガラスプレートにつけた印のところまですばやく注入します。注入するときに気泡が入らないように注意してください。

Note:モノマーの入った容器を静かに揺すりながら重合促進剤を加えると、モノマーとすばやく混合することができます。

ⅳ．注入したモノマー溶液の上に直ちに水飽和にしたイソブタノールまたはt-アミルアルコールを重層します。

図３.ミニプロティアン３のゲルカセットアッセンブリーの組み立て

図３-a

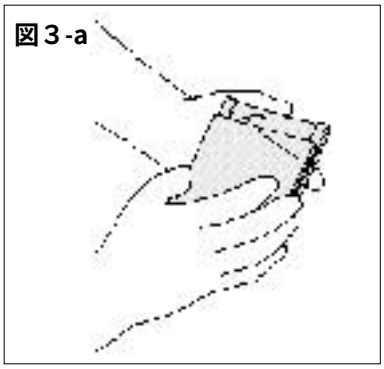


図３-b

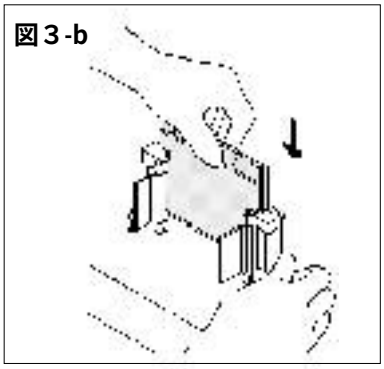


図３-c

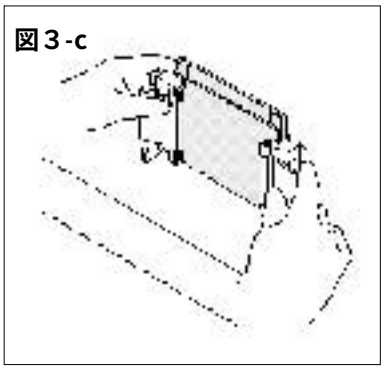
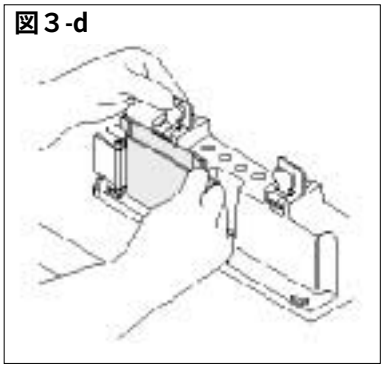


図３-d



Note:水飽和イソブタノールは、適当な容器（フタ付のチューブなど）にイソブタノール２容量に対して精製水１容量を加え、転倒混和し、しばらく静置して２層に分離した上層を使用します。t-アミルアルコールも同様です。

Note:モノマーに水を重層する場合は、液面を乱さないように静かに注意深く行いします。しかし、水を重層した場合、界面付近のモノマー溶液が薄められてその部分の%Tが低くなってしまうため、水飽和アルコールの使用をお勧めします。

．　45分～１時間放置して重合させます。重層したアルコールを捨て、精製水でよく洗浄します。アルコールを重層したまま１時間以上放置しないで下さい。ゲル表面が脱水されてしまいます。

Note:分離ゲルはこのまま室温で一晩保存することができます。ゲル表面の乾燥を防ぐため分離ゲルと同じ濃度のゲルバッファーを重層しておきます。 例えばLaemmliのバッファー系の場合、1.5M Tris-HCl（pH8.8）１容量に対し精製水４容量で希釈したもの（0.375M Tris-HCl）を重層します。

vi．濃縮ゲルのモノマー溶液を調製します。 TEMEDとAPS以外の試薬を混合し、減圧下で少なくとも15分間脱気します。

vii．濃縮ゲルを重層する前に、分離ゲルの表面の水分を取り除きます。

viii．脱気したモノマー溶液にTEMEDとAPSを添加してよく混合し、ピペットなどを用いてショートガラスプレートの上端まですばやく注入します。注入するときに気泡が入らないように注意してください。

Note:モノマーの入った容器を静かに揺すりながら重合促進剤を加えると、モノマーとすばやく混合することができます。

ix．スペーサー付ガラスプレートの上端からコームを挿入します。コームはウェル数と厚さが表記されている側を手前にします。ウェル上部の凸部分がショートガラスプレートの上に乗るようにします。

Note:コーム下端に気泡がトラップされないように注意して下さい。気泡が入るとウェル面が平らにならないため、バンドが乱れます。

x．濃縮ゲルが重合するまで30-45分間放置します。

xi．コームを静かに抜き取り、精製水または泳動バッファーでウェルを丁寧に洗浄して未重合のモノマーやゲルの小粒子などを取り除いて下さい。洗浄後は、ガラスプレートの両端を持ち、逆さにして軽く振るなどしてウェルに残った水分を取り除きます。

b．連続バッファー系ポリアクリルアミドゲル

i．分離ゲルモノマー溶液を調製します（「４．試薬の調製と保存溶液」参照）。TEMEDとAPS以外の試薬をすべて混合し、減圧下で少なくとも15分間脱気します。

ii．脱気したモノマー溶液にTEMEDとAPSを添加してよく混合し、ピペットなどを用いてショートガラスプレートの上端まですばやく注入します。注入するときに気泡が入らないように注意してください。

Note:モノマーの入った容器を静かに揺すりながら重合促進剤を加えると、モノマーとすばやく混合することができます。

iii．スペーサー付ガラスプレートの上端からコームを挿入します。コームはウェル数と厚さが表記されている側を手前にします。ウェル上部の凸部分がショートガラスプレートの上に乗るようにします。

Note:コーム下端に気泡がトラップされないように注意して下さい。気泡が入るとウェル面が平らにならないため、バンドが乱れます。

iv．45分～1時間静置して重合させます。

．コームを静かに抜き取り、精製水または泳動バッファーでウェルを丁寧に洗浄して未重合のモノマーやゲルの小粒子などを取り除いて下さい。洗浄後は、ガラスプレートの両端を持ち、逆さにして軽く振るなどしてウェルに残った水分を取り除きます。

バイオ・ラッドレディーゲルJ

1．レディーゲルJゲルカセットの準備

Note:バイオ・ラッドのレディーゲルJ以外のプレキャストゲルは、ゲルカセットサイズが装置に合わないためミニプロティアン3セルではご使用になれません。

ａ．ゲルカセットをパックから取り出します。
ｂ．コームを静かに抜き取り、精製水または泳動バッファーでウェルを丁寧に洗浄してゲルの小粒子などを取り除いて下さい。

Note:ゲルの小粒子などがウェルに残っていると、レーン全体に縦すじが入る原因になります。

ｃ．ガラスプレートの両端を持ち、逆さにして軽く振るなどしてウェルに残った水分を除きます。ウェルに乱れが生じた場合は、ピペットチップなどで乱れを直して下さい。
ｄ．２枚目のゲルも同様に準備します。

2－2 泳動槽の組み立てとサンプルアプライ

上部バッファー槽の組み立て

1．キャスティングスタンドからゲルカセットアッセンブリを外します。キャスティングフレームのカムを内側に回転させて開き、ゲルカセットを取り出します(図4-a)。
2．クランピングフレームから電極アッセンブリを取り外します。クランピングフレームの２つのカムを外側に開くと、電極アッセンブリを取り外すことができます。

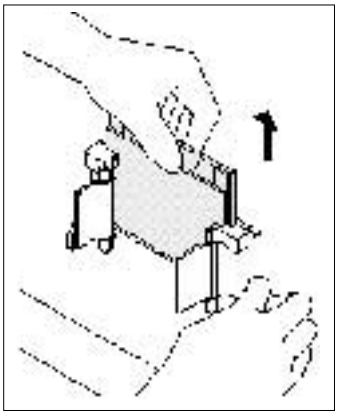


図4-a

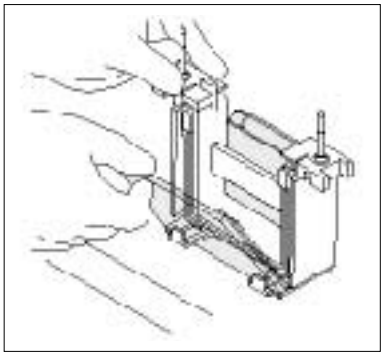


図4-b

Note:ゲルカセットをセットするときは、必ず電極アッセンブリをクランピングフレームから取り出してセットして下さい。クランピングフレームの中でゲルカセットをセットすると、ゲルカセットが正しくセットされずバッファーが漏れることがあります。

3．電極アッセンブリの脚部の両側にあるスロットにゲルカセットを置きます。この時、ゲルカセットのショートガラスプレートが内側になるようにU字型ガスケットの方に向けて置きます(図4-b)。

Note:ゲルカセットを１枚だけで泳動するときは、もう一方にバッファーダムを置いて下さい。バッファーダムの段差がついている方をU字型ガスケットに向けて置きます。

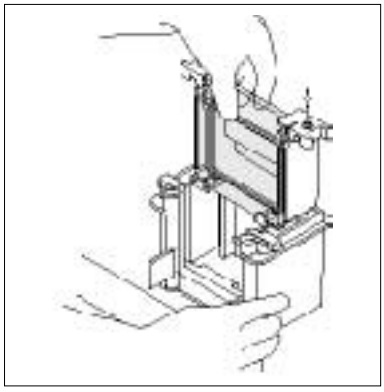


図4-c

4．ゲルカセットをガスケットに軽く押さえつけるようにして持ち、電極アッセンブリをクランピングフレームの中に上からはめ込みます(図4-c)。
5．電極アッセンブリを軽く上から押さえつけながらクランピングフレームの２つのカムを内側に閉じると、上部バッファー槽になります。この際、ショートガラスプレートとガスケットの段差を密着させて上部バッファー槽内部が完全にシールされるようにします(図4-d)。

Note:電極アッセンブリを軽く押さえつけることによって、ゲルカセットのショートガラスプレートとガスケットの段差が密着されるため、バッファー漏れをなくします。

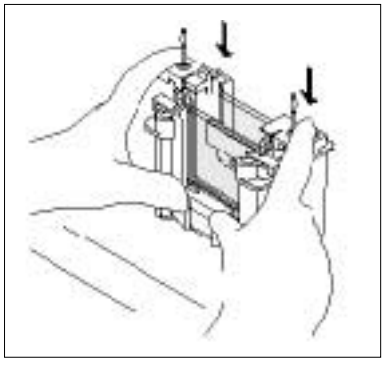


図4-d

6．上部バッファー槽を下部バッファー槽に入れます。下部バッファー槽は左右どちら向きでもかまいません（図4-e)。上部バッファー槽の内側に泳動バッファーを約130-140ml入れます。泳動バッファー量はゲルカセットのスペーサー付ガラスプレートとショートガラスプレートの中間の高さになるようにします。

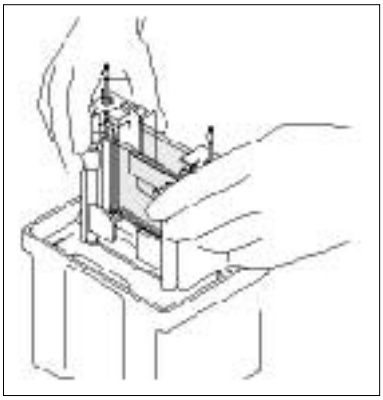


図４-e

Note:上部バッファー槽内の泳動バッファーはあふれさせないように注意して下さい。泳動バッファーがあふれるとサイフォン作用が生じて泳動バッファーのロスや電気泳動の妨害を引き起こします。

Note:上部バッファー槽内部に泳動バッファーを満たした後、そのまましばらく置いて泳動バッファーの漏れがないかを確認して下さい。バッファー漏れがあった場合、もう一度上部バッファー槽を組み立て直して下さい。

7．下部バッファー槽に泳動バッファーを泡立てないように静かに入れます。泳動バッファー量は少なくともゲルカセットの下端から１cm上のところまで入れます（約180ml）。ゲルが泳動バッファーと電気的に均一に接するように、ゲル下端に付着した気泡を取り除きます。気泡を取り除くには下部バッファー槽の中の泳動バッファーをピペットなどで揺すって追い出します。

Note:下部バッファー槽の泳動バッファーを分離ゲルの高さまで満たすことで泳動中に生じる熱を泳動バッファーが吸収し、スマイリングを軽減することができます。

サンプルのアプライ

1．マイクロシリンジやプロト／エレクチップ（カタログ番号223－9917）のようなサンプルローディング用のチップをつけたマイクロピペットなどを用いてサンプルをウェルにアプライします。

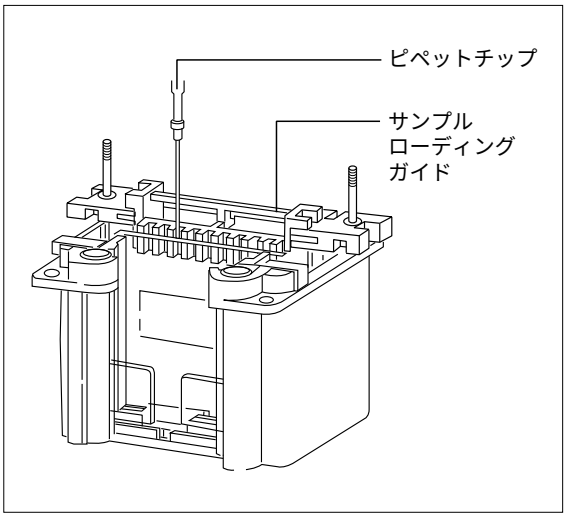


図５．サンプルローディングガイドの使い方

Note:サンプルはウェルの底に平らに沈むように静かにアプライします。シリンジやピペットチップがウェルの底に触らないように注意して下さい。

Note:各ウェルにアプライできるサンプル量は、「1-3仕様」をご参照下さい。

2．サンプルローディングガイドを使用するときは、ガイドを２枚のゲルカセットの間に置きます。ガイドの溝にマイクロシリンジやピペットチップを入れてサンプルをアプライします。コームのウェル数に合ったガイドをご使用下さい（図5）。

２－３ 泳　動

泳動槽の準備

1．泳動槽にフタをします。電極アッセンブリのバナナプラグとフタのケーブルの色を合わせると正しく接続されます。フタは一方向にしか接続できない構造になっていますので逆泳動する心配はありません。

電気条件

1．赤黒ケーブルを適切なパワーサプライに正しく接続します。ケーブルのプラグとパワーサプライのジャックの色が合うようにします。
2．ミニプロティアン３セルに通電し、泳動を開始します。SDS-PAGEおよびほとんどのNative-PAGEの場合、200V定電圧での泳動をお勧めしています。ゲルの枚数やゲル厚によって条件を変える必要はありません。泳動時間はゲルの枚数やゲル濃度、泳動バッファーの温度などによって多少変動しますが、約35～45分です。サンプルバッファーの色素がゲルの下端にきたら泳動終了です。

ゲルの取り外し

1．泳動が終了したら、まずパワーサプライの電源を切り、赤黒ケーブルのプラグをパワーサプライから外します。
2． フタを外し、上部バッファー槽を取り出します。斜めに傾けて泳動バッファーを捨てます。

Note:クランピングフレームのカムを開く前に必ず泳動バッファーを捨てて下さい。泳動バッファーが入ったままカムを開けるとこぼれます。

3．クランピングフレームのカムを外側に開きます。クランピングフレームから電極アッセンブリを上方向に引き抜いて取り出し、ゲルカセットを取り外します。
4．ゲルカセットをショートガラスプレートが上になるようにして手のひらに乗せ、2枚のガラスプレートの隙間にスパーテルなどを差し込んでショートガラスプレートを静かに持ち上げるようにして外します。ガラスを外す際にゲルがガラスプレートのどちらかに付着します。ゲルが破れないよう注意しながら、ゲルがついていない方のプレートを取り外します。
5．スペーサー付ガラスプレートの方にゲルが付着したときは、ゲルとスペーサーの間にスパーテルを滑らせるなどして外れやすくしておきます。ガラスプレートからゲルを外し、染色用の固定液またはブロッティング用転写バッファーに浸漬します。

Note:ゲルをガラスプレートから外すには、ガラスプレートを裏返してゲルを下側に向けて持ち、ゲルとガラスプレートの間にスパーテルを入れてゲルをめくるようにすると、ゲルがうまくはがれ落ちます。または、ゲルがついた面を上に向けてガラスプレートごと固定液や転写バッファーに入れ、ゲルがガラスプレートからはがれるまで静かに振とうします。

6．ご使用後は毎回、電極アッセンブリ、クランピングフレーム、下部バッファー槽に精製水を十分にかけて洗浄して下さい。

３．分離の理論と条件検討

３－１ はじめに

ポリアクリルアミドゲル電気泳動は複雑に混ざりあったタンパク質などの生体分子をその大きさと電荷によって分離するのに有効な手法です。電気泳動では、サンプル、ゲルマトリックス、ゲルバッファー、電流の間で複雑な相互作用が働き、個々の分子がバンドとして分離されます。そのため電気泳動ではゲルのポアサイズ、バッファー系、目的分子の性質をよく考慮する必要があります。

ゲルのポアサイズ

ゲルのポアは、ポリアクリルアミドが架橋剤（ビスなど）と架橋することで形成される網目構造によってつくられます。この構造はゲル中を通る分子に対して分子ふるい効果を持ちます。ゲルのポアサイズはアクリルアミドモノマー濃度（％Ｔ）と相関関係があります。一般的に、ポリアクリルアミドゲルは架橋剤を含むアクリルアミドモノマーの重量パーセントを示す％Ｔで表記されます。％Ｔはゲルのポアサイズの指標になり、通常、％Ｔが高くなるとポアサイズは小さくなります。

％Ｔは次式によって計算されます。

$$\％T = \frac{\text{アクリルアミドの総重量（g）＋架橋剤の総重量（g）} \times 100\％}{\text{総液量（ml）}}$$

％Ｃは架橋剤とアクリルアミドモノマーのモノマー溶液中の比率を表わします。

％Ｃは次式によって計算されます。

$$\％C = \frac{\text{架橋剤の総重量（g）} \times 100\％}{\text{アクリルアミドの総重量（g）＋架橋剤の総重量（g）}}$$

分析用のゲルには2.67％Ｃが一般的に使われています。

ポリアクリルアミドゲルは、単一濃度の均一ゲルと、％Ｔの濃度勾配をつけるグラジェントゲルを作ることができます。均一ゲルでは7.5％Ｔ～20％Ｔ、グラジェントゲルでは4－15％Ｔ～10－20％Ｔの範囲が一般的です。

最適な分離のための総モノマー濃度は、最適％Ｔとして表わされます。最適％Ｔは目的分子の分子量に依存して変化します。経験的に、最適な分離が得られるポアサイズは、目的タンパク質の移動度（Rf値）が0.55－0.6の間になるものです。

Rf値は次式によって計算されます。

$$Rf = \frac{\text{目的タンパク質の移動距離}}{\text{イオンフロントの移動距離}}$$

ゲルバッファー系

バッファー系によって、必要な電気条件と分離能が異なります。バッファー系はゲルに含まれるバッファーと泳動バッファーから成り、連続バッファー系と不連続バッファー系があります。

連続バッファー系

連続バッファー系では、ゲルと泳動バッファーに含まれるバッファーイオンとpHが同じになります。一般的に均一濃度（％Ｔ）ゲルを用い、サンプルは変性させずにアプライされます。この系は濃縮ゲルがなく、バンド幅はアプライされたサンプルの高さに依存するため、より良い結果を得るためにはサンプルをできるだけ濃縮して容量を少なくする必要があります。

不連続バッファー系

不連続バッファー系では、ゲルと泳動バッファーに含まれるバッファーイオンとpHが異なります。ゲルと泳動バッファーを異なる組成にし、さらに分離ゲルの上に濃縮ゲルをつけることでサンプルは細いバンドに圧縮されてから分離されるため、個々のタンパク質の分離が良くなりバンドもシャープになります。不連続バッファー系は、当初は非変性またはNativeでのタンパク質の分離を目的として開発されましたが、現在もっとも広く使われている不連続バッファー系は、Laemmli[1]によって開発されたSDS-PAGEのバッファー系です。この系のバッファー組成については、「4. 試薬の調製と保存溶液」で述べます。

3－2 SDS-PAGE（Laemmli）バッファー系

Laemmliのバッファー系は、バッファーにSDSを含む不連続バッファー系です。この系では、サンプルのタンパク質はドデシル硫酸ナトリウム（SDS）と2-メルカプトエタノール（β-ME）などのチオール還元試薬を含むバッファー中で加熱処理することで変性されます。その結果生成されるポリペプチドは直鎖状の構造をとり、分子量に対する電荷の比率は均一になります。このバッファー系はタンパク質がそれぞれの分子量の大きさに従って分離するため、目的分子の分子量を求めるのに非常に有効です。

3－3 Native-PAGE

Native-PAGEは生物活性を持ったタンパク質を分離する手法です。SDS-PAGEとは対称的にタンパク質は分子の大きさと電荷によって移動します。Native-PAGEにはすべてのタンパク質に適したバッファー系はありません。Native-PAGEでのタンパク質を分離するために重要なパラメーターは、目的タンパク質の等電点(pI)とバッファーのpHです。

pHとpI

Native-PAGEのバッファーのpHは、目的のタンパク質が安定で生物活性を保持している範囲でなければなりません。さらに、バッファーのpHはゲルを移動するのに十分な電荷をタンパク質に与えるものが必要です。バッファーのpHの変化は目的タンパク質の電荷と形状に影響し、その結果移動度に影響します。例えば、タンパク質のpIより高いpHのバッファー中では、タンパク質はマイナスに荷電するため陽極側に向かって移動します。逆に、タンパク質のpIより低いバッファー中では、タンパク質はプラスに荷電するため陰極側に向かって移動します。pIと同じpHのバッファー中では、タンパク質は電荷を持たないため電場の中を移動しません。

タンパク質の易動度はバッファーのpHに最も影響を受けます。バッファーのpHがpIに近いほどより良い分離能が得られますが、泳動時間は長くなります。逆に、バッファーのpHがpIから離れるほどタンパク質は早く移動しますが、分離能は悪くなります。バッファーのpHは分離能と移動速度が最適になるものを検討する必要があります。

Native-PAGEのバッファー系の選択方法

1）不連続バッファー系(Ornstein-Davis[2])

非変性条件下での泳動には、まず不連続バッファー系での検討を行います。詳細なプロトコールについては4-3で述べます。この系は濃縮ゲルによって濃度の薄いサンプルの濃縮が可能ですが、濃縮効果は時としてタンパク質の凝集や沈殿を引き起こし、分離能を低下させることがあります。タンパク質の凝集や沈殿が起こった場合は連続バッファー系を使うと良いでしょう。

Note:Ornstein-Davisの系では分離ゲルのpHは泳動中にほぼpH9.5になり、タンパク質によってはこのpHでは不安定で変性してしまうことがあります。また目的タンパク質のpIが9.5に非常に近接している、あるいはそれよりも高い場合には、タンパク質が非常に低い電荷しか持たない、あるいはプラスに荷電しているために移動が著しく低下したり妨げられます。このような場合には、Chambach and Jovin[3]のバッファー系があります。

Note:バッファー系を選択する前に、目的タンパク質のpIを調べることをお勧めします。

2）連続バッファー系

不連続バッファー系でタンパク質が濃縮ゲル中で凝集または沈殿を生じる場合は、連続バッファー系を使用します。この系では上部泳動バッファー、下部泳動バッファー、ゲルバッファーはすべて同一のものを使用します。この系は濃縮効果がないため、サンプルはアプライした時の幅のまま移動します。そのため、サンプルボリュームはできるだけ少なくします。連続バッファー系ではタンパク質の移動度はゲルの分子ふるい効果よりもpHに依存します。そのため、アプリケーションの多くは６％のゲルを薦めていますが、分子量が非常に大きいタンパク質の場合には、４％または５％のゲルが用いられます。McLellan[4]はpH3.8-10.2の範囲で使用できる種々の連続バッファー系について述べています。詳細は4-4で述べます。

４．試薬の調製と保存溶液

4-1 ゲル1枚あたりに必要な溶液量

下記の表はゲルカセット１枚を満たすのに必要な溶液量です。コームを使用する場合としない場合、濃縮ゲルを重層する場合としない場合で必要量は異なります。

ゲル厚(mm)	容量(ml)
0.5	2.8
0.75	4.2
1.0	5.6
1.5	8.4

Note:濃縮ゲルモノマー溶液はゲルの厚さに関わらず2枚分で10mlあれば十分です。

4-2 SDS-PAGE(Laemmli[1])バッファー系

保存溶液とバッファーの調製

１．30%アクリルアミド／ビス保存溶液（30%T，2.67%C）

アクリルアミド	87.6g （29.2g/100ml）
ビ　ス	2.4g （0.8g/100ml）

精製水に溶解し、300mlにします。ろ過し、４℃にて遮光保存します。保存期限は30日です。

もしくは、下記の弊社製品をお使い下さい。
アクリルアミド／ビス混合試薬 37.5：1，150g (カタログ番号161-0125)
アクリルアミド／ビス30%溶液 37.5：1，500ml（カタログ番号161-0158）
アクリルアミド／ビス30%溶液 37.5：1，500ml×2本（カタログ番号161-0159）

２．10%(w/v)SDS保存溶液

10gのSDSを90mlの精製水に加え、静かに攪拌して溶解します。精製水を加えて100mlにします。室温で保存します。

３．分離ゲルバッファーの保存溶液 （1.5M Tris-HCl、pH8.8）

トリス	27.23g （18.15g/100ml）
精製水	約80ml

27.23gのTrisを約80mlの精製水に溶解し、6NのHClでpH8.8に調整後、精製水を加えて150mlにします。４℃で保存します。

もしくは、下記の弊社製品をお使い下さい。
1.5M Tris-HCl、pH8.8プレミックスバッファー 1L（カタログ番号161-0798）

4．濃縮ゲルバッファーの保存溶液（0.5M Tris-HCl、pH6.8）

トリス	6g
精製水	約60ml

6gのTrisを約60mlの精製水に溶解し、6NのHClでpH6.8に調整後、精製水を加えて100mlにします。４℃で保存します。

もしくは、下記の弊社製品をお使い下さい。
0.5M Tris-HCl、pH6.8プレミックスバッファー 1L（カタログ番号161-0799）

5．サンプルバッファー（SDS還元バッファー）

精製水	3.55ml
0.5M Tris-HCl、pH6.8	1.25ml
グリセロール	2.5ml
10%(w/v)SDS	2.0ml
0.5%(w/v)ブロモフェノールブルー	0.2ml
Total Volume	9.5ml

室温で保存して下さい。

もしくは、下記の弊社製品をお使い下さい。
Laemmliサンプルバッファー、30ml（カタログ番号161-0737）

使用方法：使用直前にサンプルバッファー950μlに対してβ－メルカプトエタノール50μlを加えます。少なくともサンプル容量1に対してサンプルバッファー容量2の割合で混合し、ウォーターバスにて95℃で４分間加熱処理します。

6．10×泳動バッファー（1L）（終濃度（1×）：25mM トリス、192mM グリシン、0.1%SDS、pH8.3）

トリス	30.3g
グリシン	144.0g
SDS	10.0g

精製水に溶解し、1000mlにします。酸やアルカリでpHを調整しないで下さい。4℃で保存します。沈殿が生じた場合は室温に戻してからお使い下さい。

もしくは、下記の弊社製品をお使い下さい。
10×トリス／グリシン／SDSプレミックスバッファー，1L （カタログ番号161-0732）
10×トリス／グリシン／SDSプレミックスバッファー，1L×6本（カタログ番号161-0755）
10×トリス／グリシン／SDSプレミックスバッファー，5Lキューブ（カタログ番号161-0772）

使用方法：１回の泳動につき10×泳動バッファー50mlに精製水450mlを加え、静かによく攪拌してから使用します。

7．10%APS（用時調製）

過硫酸アンモニウム	100mg

1mlの精製水に溶解します。

ゲル組成（モノマー10ml分）

1．下記の表に従ってTEMEDと10%APS以外のすべての試薬と保存溶液を混合してモノマー溶液を調製します。減圧下で少なくとも15分間脱気します。

Note:濃縮ゲル濃度は4%Tが一般的です。分離ゲル濃度は目的分子の分子量に応じて最適なものを用います。（「3．分離の理論と条件検討」参照）。

ゲル濃度（%T）	精製水（ml）	30%アクリルアミド／ビス（ml）	ゲルバッファー*（ml）	10%SDS（ml）
4%	6.1	1.3	2.5	0.1
5%	5.7	1.7	2.5	0.1
6%	5.4	2.0	2.5	0.1
7%	5.1	2.3	2.5	0.1
8%	4.7	2.7	2.5	0.1
9%	4.4	3.0	2.5	0.1
10%	4.1	3.3	2.5	0.1
11%	3.7	3.7	2.5	0.1
12%	3.4	4.0	2.5	0.1
13%	3.1	4.3	2.5	0.1
14%	2.7	4.7	2.5	0.1
15%	2.4	5.0	2.5	0.1
16%	2.1	5.3	2.5	0.1
17%	1.7	5.7	2.5	0.1

*分離ゲルバッファー：1.5M Tris-HCl,pH8.8
*濃縮ゲルバッファー：0.5M Tris-HCl,pH6.8

2．ゲルモノマーをゲルカセットに注入する直前に重合促進剤を加えます。

Note:モノマーの入った容器を静かに揺すりながら重合促進剤を加えると、モノマーとすばやく混合することができます。

モノマー溶液10mlに必要な重合促進剤

分離ゲル	10%APS	50μl
	TEMED	5μl
濃縮ゲル	10%APS	50μl
	TEMED	10μl

4-3 不連続バッファー系Native-PAGE（Ornstein-Davis）[2]

保存溶液とバッファーの調製

1．30%アクリルアミド／ビス保存溶液（30%T，2.67%C）

アクリルアミド	87.6g （29.2g/100ml）
ビ　ス	2.4g （0.8g/100ml）

精製水に溶解し、300mlにします。ろ過し、４℃にて遮光保存します。保存期限は30日です。

もしくは、下記の弊社製品をお使い下さい。
アクリルアミド／ビス混合試薬 37.5：1，150g (カタログ番号161-0125)
アクリルアミド／ビス30%溶液 37.5：1，500ml（カタログ番号161-0158）
アクリルアミド／ビス30%溶液 37.5：1，500ml×2本（カタログ番号161-0159）

2．分離ゲルバッファーの保存溶液 （1.5M Tris-HCl、pH8.8）

トリス	27.23g （18.15g/100ml）
精製水	約80ml

27.23gのTrisを約80mlの精製水に溶解し、6NのHClでpH8.8に調整後、精製水を加えて150mlにします。４℃で保存します。

もしくは、下記の弊社製品をお使い下さい。
1.5M Tris-HCl, pH8.8プレミックスバッファー 1L（カタログ番号161-0798）

3．分離ゲルバッファーの保存溶液 （0.5M Tris-HCl、pH6.8）

トリス	6g
精製水	約60ml

６gのTrisを約60mlの精製水に溶解し、6NのHClでpH6.8に調整後、精製水を加えて100mlにします。４℃で保存します。

もしくは、下記の弊社製品をお使い下さい。
0.5M Tris-HCl, pH6.8プレミックスバッファー 1L（カタログ番号161-0799）

4．サンプルバッファー

精製水	5.55ml
0.5M Tris-HCl,pH6.8	1.25ml
グリセロール	3.0ml
0.5%(w/v)ブロモフェノールブルー	0.2ml
Total Volume	10.0ml

4℃で保存して下さい。

もしくは、下記の弊社製品をお使い下さい。
Nativeサンプルバッファー、30ml（カタログ番号161-0738）

使用方法：サンプル容量1に対して少なくともサンプルバッファー容量2の割合で混合します。
加熱処理は行いません。

5．10×泳動バッファー（1L）（終濃度（1×）：25mM トリス、192mM グリシン、pH8.3）

トリス	30.3g （15g/L）
グリシン	144.0g （72g/L）

精製水に溶解し、1000mlにします。酸やアルカリでpHを調整しないで下さい。4℃で保存します。

もしくは、下記の弊社製品をお使い下さい。
10×トリス／グリシン プレミックスバッファー，1L （カタログ番号161-0734）
10×トリス／グリシン プレミックスバッファー，1L×6（カタログ番号161-0757）
10×トリス／グリシン プレミックスバッファー，5Lキューブ（カタログ番号161-0771）

使用方法：１回の泳動につき10×泳動バッファー50mlに精製水450mlを加え、よく攪拌してから使用します。

ゲル組成（モノマー10ml分）

1．下記の表に従ってTEMEDと10%APS以外のすべての保存溶液を混合しモノマー溶液を調製します。減圧下で15分間脱気します。

ゲル濃度（%T）	精製水（ml）	30%アクリルアミド／ビス（ml）	ゲルバッファー*（ml）
4%	6.2	1.3	2.5
5%	5.8	1.7	2.5
6%	5.5	2.0	2.5
7%	5.2	2.3	2.5
8%	4.8	2.7	2.5
9%	4.5	3.0	2.5
10%	4.2	3.3	2.5

*分離ゲルバッファー：1.5M Tris-HCl、pH8.8
*濃縮ゲルバッファー：0.5M Tris-HCl、pH6.8

2．ゲルモノマーをゲルカセットに注入する直前に重合促進剤を加えます。

Note:モノマーの入った容器を静かに揺すりながら重合促進剤を加えると、モノマーとすばやく混合することができます。

モノマー溶液10mlに必要な重合促進剤

分離ゲル	10%APS	50μl
	TEMED	5μl
濃縮ゲル	10%APS	50μl
	TEMED	10μl

4-4 連続バッファー系Native-PAGE

保存溶液とバッファーの調製

1．30%アクリルアミド／ビス保存溶液（30%T，2.67%C）

アクリルアミド	87.6g （29.2g/100ml）
ビ　ス	2.4g （0.8g/100ml）

精製水に溶解し、300mlにします。ろ過し、４℃にて遮光保存します。保存期限は30日です。

もしくは、下記の弊社製品をお使い下さい。
アクリルアミド／ビス混合試薬 37.5：1，150g (カタログ番号161-0125)
アクリルアミド／ビス30%溶液 37.5：1，500ml（カタログ番号161-0158）
アクリルアミド／ビス30%溶液 37.5：1，500ml×2本（カタログ番号161-0159）

2．サンプルバッファー

精製水	5.8ml
泳動バッファー	1.0ml
グリセロール	3.0ml
0.5%(w/v)ブロモフェノールブルー	0.2ml
Total Volume	10.0ml

4℃で保存して下さい。

3．連続バッファー（McLellan[4]）

McLellanはpH3.8～pH10.2の種々のバッファー系を紹介しています。下記の表は非変性PAGEの連続バッファー系を5×濃度で示してあります。表に従って酸と塩基を精製水に溶解し、1000mlにします。酸やアルカリでpHの調整はしないで下さい。バッファーのpHが表に示されたpHと相違がある場合はもう一度調製し直して下さい。

pH	塩基（分子量）	5×溶液濃度	酸（分子量）	5×溶液濃度
3.8	β－アラニン(89.09)	13.36g/L	乳酸(85%溶液)	7.45ml/L
4.4	β－アラニン(89.09)	35.64g/L	酢酸(17.4M)	11.5ml/L
4.8	GABA(103.1)	41.24g/L	酢酸(17.4M)	5.75ml/L
6.1	ヒスチジン(155.2)	23.28g/L	MES(195.2)	29.3g/L
6.6	ヒスチジン(155.2)	19.4g/L	MOPS(209.3)	31.4g/L
7.4	イミダゾール(68.08)	14.64g/L	HEPES(238.3)	41.7g/L
8.1	トリス(121.14)	19.38g/L	EPPS(252.3)	37.85g/L
8.7	トリス(121.14)	30.29g/L	ホウ酸(61.83)	7.73g/L
9.4	トリス(121.14)	36.34g/L	CAPS(221.3)	44.26g/L
10.2	アンモニア(14.8M)	12.5ml/L	CAPS(221.3)	22.13g/L

泳動に使用する1×バッファーは、200mlの５×バッファーを800mlの精製水で希釈して調製します。1×バッファー濃度は下記のようになります。

pH	塩基	酸
3.8	30mMβ－アラニン	20mM乳酸
4.4	80mMβ－アラニン	40mM酢酸
4.8	80mM GABA	20mM酢酸
6.1	30mMヒスチジン	30mM MES
6.6	25mMヒスチジン	30mM MOPS
7.4	43mMイミダゾール	35mM HEPES
8.1	32mMトリス	30mM EPPS
8.7	50mMトリス	25mMホウ酸
9.4	60mMトリス	40mM CAPS
10.2	37mMアンモニア	20mM CAPS

ゲル組成（モノマー10ml分）

1．下記の表に従ってTEMEDと10%APS以外のすべての保存溶液を混合し、モノマー溶液を調製します。減圧下で少なくとも15分間脱気します。

ゲル濃度（%T）	精製水（ml）	30%アクリルアミド／ビス（ml）	連続バッファー（ml）
4%	6.65	1.33	2.0
5%	6.30	1.67	2.0
6%	6.05	2.00	2.0

2．ゲルモノマーをゲルカセットに注入する直前に重合促進剤を加えます。

Note:モノマーの入った容器を静かに揺すりながら重合促進剤を加えると、モノマーとすばやく混合することができます。

モノマー溶液10mlに必要な重合促進剤

10%APS	50μl
TEMED	10μl

Note:pH6以下では、TEMEDの重合促進効果が減少します。pH4～pH6のバッファーではTEMEDの量を5～10倍に増量する必要があります。

5．参考文献

1. Laemmli, U.K.,*Nature*,**227**,680(1970)
2. Ornstein, L. and Davis,B.J., *Anal.NY Acad.Sci.*,**121**,321(1964)
3. Chrambach, A. and Jovin,T.M.,*Electrophoresis*,**4**,190-204(1984)
4. McLellan,T., *Analytical Biochemistry*,**126**,94-99(1982)

6．メンテナンス

下部バッファー槽、フタ、 電極アッセンブリ、クランピングフレーム	使用後は毎回、精製水を十分にかけて洗浄して下さい。
キャスティングスタンド、 キャスティングフレーム	使用後は毎回、精製水を十分にかけて洗浄して下さい。
ガラスプレート、コーム	実験器具用洗剤などで洗浄し、精製水で十分にすすいで下さい。
ガラスプレート(特にひどい汚れの場合)	10N KOH溶液に30分以上浸け置き、精製水で十分にすすいで下さい。

7．トラブルシューティング

問題	原因	対策
1.スマイリングが生じる(ゲルの両端でバンドパターンが上向きに曲がる)。	a.ゲルの中央部の方が両端よりも温度が高くなっている。	a.上部バッファーの攪拌が不十分または濃度が濃い。正しく調製し直す。10×溶液を希釈するときは濃度が均一になるまでよく攪拌してから使用する。
	b.電気条件が高すぎる。	b.電気条件を下げる。もしくは下部バッファーの量をショートガラスプレートの1cm下まで増やす。
2.縦筋(Streaking)が入る。	a. サンプル量が過剰である。	a.サンプルを希釈する。サンプル中の主要なタンパク質が不要であれば選択的に取り除く。または電流値を通常より25%程度下げる。
	b. サンプルに沈殿が生じている。	b.サンプルバッファーを添加する前にサンプルを遠心する。または分離ゲルの%Tを下げる。
		c.各タンパク質分子に十分な量のSDSが結合しなければならない。通常、1.4：1の割合で結合させるが、膜タンパク質の中にはさらに多くの量のSDSが必要なものもある。
3.横方向にバンドが広がる。	a.電流をかける前にサンプルがウェルの外に拡散している。	a.サンプルをアプライして泳動を開始するまでの時間を短くする。
	b.サンプルのイオン強度がゲルのイオン強度より低い。	b.サンプルバッファーのイオン強度が濃縮ゲルのイオン強度に合うように調製し直す。
4.バンドが歪む。	a.サンプルウェル周囲の重合が不十分である。	a.濃縮ゲルのモノマー溶液を重合前に十分に脱気する。APSとTEMEDの量を25%程度増やす。コームをTEMEDで拭いてから濃縮ゲルに入れる。
	b.サンプルに過剰の塩類が含まれる。	b.サンプル中の塩類を脱塩カラム、透析などで除去する。
	c.ゲルの境界面に凸凹がある。	c.分離ゲルの重合速度を遅くする。濃縮ゲルの重層を注意深く行う。
5.ゲルの先端近くでレーンが狭まっている。	a.サンプルのイオン強度がサンプル周辺のゲルのイオン強度より高い。	a.サンプルおよび隣接したウェルのサンプルを脱塩する。
6.泳動時間がいつもより長くかかる。	a.泳動バッファーの濃度が濃すぎる。	a.バッファーを調製したときのプロトコールを確認し、必要に応じ希釈し直す。
	b.サンプル中に過剰の塩類が含まれている。	b.サンプルを脱塩する。
7.泳動が速すぎて分離が悪い。	a.泳動バッファーの濃度が薄すぎる。	a.バッファーを調節したときのプロトコールを確認し、必要に応じ希釈し直す。
	b.電圧が高すぎる。	b.電圧を25～50%低くする。

問題	原因	対策
8.(SDS-PAGEで)単一のバンドとして現れるはずのバンドが2本に分かれてしまう。	a.タンパク質の一部が泳動中に酸化されてしまった。または泳動前の還元処理が不十分であった。	a.調製後30日以上経過したサンプルバッファーは新しく調製し直す。サンプルバッファー中の2-メルカプトエタノールの濃度を増やす。
9.現れるはずのバンドが現れない。泳動の先端の色素部分に1本だけ濃いバンドが現れる。	a.1本以上のバンドが先端の色素付近まで泳動された。 b.サンプルのタンパク質が分解された。	a.分離ゲルの%Tを上げる。 b.サンプルにPMSFなどのプロテアーゼ阻害剤を加える。
10.上部バッファーが漏れる。	a.上部バッファーを入れすぎている。 b.上部バッファー槽の組み立て方が良くない。	a.バッファーの液面をスペーサー付ガラスプレートの上端より下げる。 b.電極アッセンブリのU字型ガスケットに汚れや傷がないかを確認し、泳動バッファーで表面をぬらしてからゲルカセットをセットする。ショートガラスプレートがガスケットの段差の上に乗らないようにする。クランピングフレームのカムを閉じるときに電極アッセンブリを軽く下に押さえつけながら閉じる。
11.ゲルキャスティング中にモノマー溶液が漏れる。	a.ガラスプレートが欠けている。 b.スペーサー付ガラスプレートとショートガラスプレートの下端がそろっていない。	a.傷のついていないガラスプレートを使用する。 b.ガラスプレートの下端をそろえる。
12.ウェルが十分に形成されない。	a.重合促進剤濃度が不適切。 b.モノマー溶液を脱気していない。 酸素が重合を阻害している。	a.重合促進剤を新しく調製し直す。 濃縮ゲルの重合促進剤の濃度を0.06%APS、0.12%TEMEDまで増やす。 b.モノマー溶液をゲルカセットに注入する直前に脱気する。

８．関連製品とアクセサリー

カタログ番号	製品名
ミニプロティアン3セル	
165-3301	ミニプロティアン3セル 下部バッファー槽(1)、ケーブル付フタ(1)、電極アッセンブリ(1)、 クランピングフレーム(1)、バッファーダム(1)、キャスティングスタンド(1)、 キャスティングフレーム(2)、 0.75mmスペーサー付ガラスプレートセット(5)、 10ウェル0.75mmコーム(2)、サンプルローディングガイド(1)
165-3302	ミニプロティアン３ レディーゲルセル 下部バッファー槽(1)、ケーブル付フタ(1)、電極アッセンブリ(1)、 クランピングフレーム(1)、バッファーダム(1)
165-3375	ミニプロティアンII アップグレードキット 電極アッセンブリ(1)、クランピングフレーム(1)
165-5050S	ミニプロティアン３セル ＰＰ３００システム
165-5050T	ミニプロティアン３レディーゲルセルＰＰシステム
165-3317J	ミニプロティアン３ミニトランスブロットシステム
170-3935	ミニトランスブロットモジュール
165-3301A	ミニプロティアン３ミニチューブゲル2次元電気泳動システム
165-2965	ミニプロティアンIIチューブセルモジュール
165-2976	モデル４２２エレクトロエリューター
165-2977	モデル４２２エレクトロエリューターモジュール

キャスティングモジュール

各キャスティングモジュールには、コーム(2)、スペーサー付ガラスプレートセット(5)、
キャスティングフレーム(2)、キャスティングスタンド(1)、サンプルローディングガイド(1)が含まれます。

	スペーサー厚			
	0.5mm	0.75mm	1.0mm	1.5mm
5wellコーム	—	165-3327	165-3332	165-3338
9wellコーム	—	165-3328	165-3333	165-3339
１0wellコーム	165-3325	165-3329	165-3334	165-3340
１5wellコーム	165-3326	165-3330	165-3335	165--3341
prep/2-Dコーム	—	165-3331	165-3336	165-3342
IPGコーム	—	—	165-3337	165-3343

カタログ番号	製品名
アクセサリー	
165-3303	ミニプロティアン３ キャスティングスタンド(1)
165-3304	ミニプロティアン３ キャスティングフレーム(1)
165-3305	ミニプロティアン３ キャスティングスタンドガスケット(2)
165-3308	ミニプロティアン３ ショートガラスプレート(5)
165-3309	ミニプロティアン３　0.5mmスペーサー付ガラスプレート(5)
165-3310	ミニプロティアン３　0.75mmスペーサー付ガラスプレート(5)
165-3311	ミニプロティアン３　1.0mmスペーサー付ガラスプレート(5)
165-3312	ミニプロティアン３　1.5mmスペーサー付ガラスプレート(5)
165-3306	ミニプロティアン３ クランピングフレーム(1)
165-3307	ミニプロティアン３ 電極アッセンブリ(1)
165-3201	サンプルローディングガイド、9well、赤 (1)
165-3146	サンプルローディングガイド、10well、黄 (1)
165-3132	サンプルローディングガイド、15well、青 (1)
165-3130	バッファーダム(2)
165-3149	電極アッセンブリ用ガスケット(2)
165-2975	フタ付下部バッファー槽
165-2949	ケーブル付フタ

	スペーサー厚			
コーム	0.5mm	0.75mm	1.0mm	1.5mm
5wellコーム	—	165-3352	165-3357	165-3363
9wellコーム	—	165-3353	165-3358	165-3364
10wellコーム	165-3350	165-3354	165-3359	165-3365
15wellコーム	165-3351	165-3355	165-3360	165-3366
prep/2-Dコーム	—	165-3356	165-3361	165-3367
IPGコーム	—	—	165-3362	165-3368

9．保　証

バイオ・ラッドはミニプロティアン３セルについてその性能を１年間保証しています。保証期間内に生じた性能不良に対しては、無償で交換･修理に応じています。ただし、下記の場合による不良に関しては保証いたしかねます。

1. 正規の使用によらない不良
2. バイオ・ラッド以外の者による修理および改造による不良
3. 事故もしくは操作の誤りによる不良
4. 天災による損傷
5. バイオ・ラッド以外の付属品、交換部品の使用による故障
6. 不適当な試薬、サンプルの使用による腐食･劣化

BIO-RAD 日本バイオ・ラッド　ラボラトリーズ株式会社

ラボプロダクト ディビジョン	本　　社	〒116-0014	東京都荒川区東日暮里5-7-18 コスモパークビル	☎(03)5811-6270 FAX.(03)5811-6272
	神奈川営業所	〒222-0033	横浜市港北区新横浜2-7-3 フジビル	☎(045)476-0351 FAX.(045)476-0350
	つくば営業所	〒305-0031	つくば市吾妻1-15-1 筑波司法会館	☎(0298)52-0835 FAX.(0298)52-0829
	大阪営業所	〒532-0025	大阪市淀川区新北野1-14-11 第一生命ビル	☎(06)6308-6568 FAX.(06)6308-3064
	名古屋営業所	〒465-0093	名古屋市名東区一社3-121-1 MIDORIビル	☎(052)702-2358 FAX.(052)702-2812
	福岡営業所	〒812-0013	福岡市博多区博多駅東2-17-5 モリメンビル	☎(092)475-4856 FAX.(092)475-4858
			※技術的お問い合わせは	☎(03)5811-6271 FAX.(03)5811-6272

M3121-9906